道衛研所報
第29集 (1979)

先天性代謝異常症のマス・スクリーニング（第7報）
アミノ酸分析計による血液沪紙中のアミノ酸定量について*

Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism (Part 7)
Determination of Amino Acid in Blood-absorbed filter paper discs with an Amino Acid Analyzer

伊東　和徳**　市原　侃　佐藤　秀男
中田　英子　佐藤七七朗　熊谷　満
荒島真一郎***　大柳　和彦****

Kazunori Itoh, Naoshi Ichihara, Hideo Sato,
Hideko Nakata, Nanao Satoh, Mitsuru Kumagai
Shinichiro Arashima and Kazuhiko Oyanagi

フェニールケトン尿症（以下PKU症），メイプルシロップ尿症，ヒスチジン血症，およびホモシスチン尿症を対象とする先天性アミノ酸代謝異常症の検査には，検体処理能力および，迅速性に優れているガスリー法[1]が採用され，この方法による新生児のマス・スクリーニングが全国的に普及している。しかし，この方法では，検出できるアミノ酸の種類と定量性に限界があるところから，対象疾患の確定検査は，他の方法に依存している。このため，関連の検査機関では，ガスリー法に替るより良い方法を求めて，アミノ酸検出法の探索ならびにその検討を行っているのが実情で，すでに方法についていくつかの報告がある[2)~4)]。

そこで著者らは，ガスリー法の検体として用いられている血液沪紙を分析して，アミノ酸代謝異常症の確定検査を行うことを目的とし，その基礎的実験として正常新生児から採血して調製した血液沪紙中のアミノ酸をアミノ酸自動分析計を用いて測定し，若干の知見を得たので報告する。

被検試料の調製は，以下に示す方法で行った。血液沪紙から直径5㎜のディスクを4枚打ち抜き，これを2ml容量のベノジェクト真空採血管に入れて0.2mlの蒸留水を加え，4℃で10分間振とうした。さらに2％ズルフォサリチル酸溶液0.2mlを加えて，再び4℃で10分間振とうし，次いで3,000r.p.m.，4℃10分間の遠心分離を行ったのち，その上澄液の0.2mlをアミノ酸分析用試料液とした。

今回使用したアミノ酸分析計および分析条件は，下記に示した。

機器：835型日立高速アミノ酸分析計，カラム：2.6×250㎜，イオン交換樹脂：日立カスタムイオン交換樹脂#2619，緩衝液流量，0.275ml/min，ニンヒドリン流量：0.3ml/min，カラム圧：110～200kg/cm²，ニンヒドリン圧：15～35kg/cm²，カラム温度：34～68℃，N_2ガス圧：0.28kg/cm²，なお生体液分析法用緩衝液とニンヒドリン溶液の調製方法，および分析プログラム（緩衝液とカラム温度の切り換え）は，それぞれ取扱説明書[5]に準じた。各アミノ酸の同定は，アミノ酸混合標準溶液（和光純薬工業製，AN型，B型）にL-グルタミンとL-トリプトファンを加えたものを用い，その溶出ピークの位置と比較して行った。各アミノ酸の定量は，日立835型高速アミノ酸分析計の付属データ処理ユニット装置[5]を使用して，絶対検量線法によって行った。

Tabel 1に正常新生児16名の血液沪紙中のアミノ酸量の平均値を示す。この定量値は，各新生児の血液ディスク中に吸着される血液量を正確に測定できないため，血液ディスク2枚中のアミノ酸量として求めた。

なお，ここで得た正常新生児の血液ディスク中のアミノ酸量を正常値として，現在以下のように応用している。PKU症と診断された新生児の血液ディスク中のアミノ酸量をTable 1の値と比較すると，PKU症のアミノ酸量は正常の新生児よりL-チロジンが低く（0.644nmoles/two discs），L-フェニルアラニンが著しく高い（15.92nmoles/two discs）ことが確認できた[6]。また新生児の中には，ガスリー法で，1～2ヶ月にわたり，L-フェニルアラニン量，3mg/dlと

** 北海道北見保健所
*** 北海道大学医学部小児科
**** 札幌医科大学小児科

Table 1 Amino acid Concentration in Two 5-mm Filter Paper Discs Impregnated with Blood from Normal Infants

Amino acids	Mean(n moles/two discs)	S D
Phosphoserine	1.307	0.270
Taurine+(Phosphoethanolamine)	6.493	1.035
Urea	Trace	—
Aspartic acid	0.995	0.378
Threonine	3.649	1.101
Serine	5.486	2.108
Glutamic acid	5.974	1.329
Glutamine	11.832	5.276
Sarcosine	N D	—
α-amino adipic acid	N D	—
Glycine	5.995	1.568
Alanine	5.723	1.101
Citrulline	0.265	0.150
α-amino-n-butyric acid	0.135	0.044
Valine	2.947	0.605
Cystine	0.168	0.029
Methionine	0.491	0.216
Cystathionine	0.145	0.062
Isoleucine	1.097	0.208
Leucine	2.096	0.381
Tyrosine	2.210	0.769
Phenylalanine	0.939	0.165
β-alanine	N D	—
β-Aminoisobutyric acid	N D	—
γ-amino-n-butyric acid	N D	—
Ethanolamine	N D	—
Ammonia	2.268	0.731
Hydroxylysine	N D	—
Ornithine	4.099	0.941
Tryptophan	Trace	—
Lysine	2.520	0.511
1-Methylhistidine	Trace	—
Histidine	1.511	0.460
3-Methylhistidine	Trace	—
Anserine	N D	—
Carnosine	N D	—
Arginine	0.589	0.154
Hydroxyproline	0.704	0.223
Asparagine	2.433	0.549
Proline	3.900	1.322

* Sixteen infants, 5 to 7 days of age.

N D:Not detected.

判定され，PKU症の疑陽性として判定に迷う例を，われわれはしばしば経験するが，この場合もL-チロジン量を測定し，正常範囲内であれば正常としている。

これらの例のように，血液沪紙中のアミノ酸を一定のパターンとしてとらえることにより，本法を確定検査の方法の一つとして応用することができるが，今後，更に他のアミノ酸代謝異常症についても検討を重ねていく予定である。

* この報告の一部は，第6回代謝異常スクリーニング研究会（1978年9月，名古屋）において発表した。

文　献

1) Guthrie, R.: J. Am. Med. Ass., **178**, 863 (1961)
2) 住勝実 他：第6回代謝異常スクリーニング研究会，抄録集，22 (1978)
3) 鵜田恵美子 他：同上誌，21 (1978)
4) 菅森徳蔵 他：同上誌，20 (1978)
5) 日立835型高速アミノ酸分析計，取扱説明書
6) Shaw, K. N. H and Gortatowski, M. I.: Phenylketonuria, ed. by Bickel. H. et al. Georg Thieme Verlag. Stuttgart (1971)